Rispettoso omaggio
Rondoni

A

399

[Dal R. Istituto di Studi Superiori di Firenze.
Laboratorio di Patologia Generale, diretto dal Prof. A. Lustig].

LA REAZIONE PERITONEALE AI BACILLI TUBERCOLARI ED ALLA TUBERCOLINA, STUDIATA SPECIALMENTE COLLA COLORAZIONE VITALE MEDIANTE IL TRYPANBLAU.

(Con 1 tavola a colori).

Dott. PIETRO RONDONI, aiuto e libero docente.

Estratto dallo Sperimentale (Archivio di Biologia normale e patologica)
Anno LXX - Fasc. I - Gennaio-Febbraio 1916.

[Dal R. Istituto di Studi Superiori di Firenze.
Laboratorio di Patologia Generale, diretto dal Prof. A. Lustig].

LA REAZIONE PERITONEALE AI BACILLI TUBERCOLARI ED ALLA TUBERCOLINA, STUDIATA SPECIALMENTE COLLA COLORAZIONE VITALE MEDIANTE IL TRYPANBLAU.

(Con 1 tavola a colori).

Dott. PIETRO RONDONI, aiuto e libero docente.

Di recente *Pappenheim*, *Pappenheim* e *Fukushi* hanno dimostrato che negli animali colorati vitalmente col carminio gli elementi cellulari (mononucleati) degli essudati delle sierose, in ispecie del peritoneo (in seguito ad iniezione di tubercolina), sono in gran parte colorati, e ciò tanto elementi grossi, sul tipo di macrofagi, come elementi piccoli, in tutto simili a linfociti. Se si deve ammettere colla maggioranza degli Autori che la colorazione vitale sia specifica per gli elementi istogeni, ciò vuol dire che tutte le suddette cellule mononucleate degli essudati peritoneali sono di origine non ematogena, ma istogena: onde esse saranno secondo *Pappenheim* dei *macroistiociti* e dei *microistiociti* nel senso di *Aschoff*; e deriveranno non dagli elementi di rivestimento della sierosa, che sono essi pure cromofobi, ma da cellule mesenchimali indifferenti del peritoneo e dell'omento, da endoteli, da cellule a tipo di clasmatociti, da cellule avventiziali o periteliali, ecc., da cellule istogene insomma, aventi quindi il carattere esse stesse della carminofilia. Da questi elementi istogeni peritoneali deriverebbero prima le grosse cellule dell'essudato a tipo di macrofagi (*macromo-*

nociti o *macroistiociti*), da queste poi per continuata proliferazione i piccoli elementi linfocitiformi (*micromonociti* o *microistiociti*). Secondo lo stesso *Pappenheim* anzi, se prima di provocare l'essudato nell'animale colorato, si fanno scomparire i leucociti circolanti a mezzo del trattamento col torio, gli essudati offrono lo stesso i detti elementi carminofili: altra prova questa, che essi non si originano dalle cellule bianche del sangue.

Senza riportare qui la letteratura relativa agli essudati delle sierose ed a quelli intraperitoneali in ispecie (in parte già da me citata in una precedente memoria sulla reazione flogistica nell'organismo allergico e in gran parte riportata nella rivista sintetica di *Marchand*), dirò soltanto come questa questione della natura degli elementi mononucleati degli essudati peritoneali sia stata discussa anche da *Renaut* e da *Goldmann*: essi però si riferiscono principalmente ai grossi elementi, a tipo di macrofagi, i quali deriverebbero dalle *cellule ragiocrine* o *cellule pirroliche* dell'omento. Tali macrofagi peritoneali sarebbero secondo *Renaut* derivati originariamente da linfociti, avrebbero però abbandonato la circolazione sanguigna e per la via cavitaria (pleuro-peritoneale) sarebbero arrivati all'omento ove costituirebbero sopratutto le macchie lattee: per effetto di irritazioni diverse potrebbero tornare a mobilizzarsi e riassumerebbero quel potere secretorio (granuli colorabili vitalmente) che sarebbe andato perduto nei periodi di riposo. Secondo *Goldmann* invece le cellule, da lui dette *pirroliche*, cioè colorabili vitalmente dal pyrrholblau e dagli altri colori acidi, in tutto analoghe alle cellule ragiocrine dell'Autore francese, non derivano primitivamente da linfociti, ma si generano senz'altro nelle macchie lattee, di qui si spargono in tutto l'omento e penetrano nella cavità peritoneale, ove formano i detti macrofagi. Per l'origine degli elementi piccoli *Goldmann* si limita a riportare l'opinione di *Schott*, che nelle macchie lattee dell'omento si formano anche linfociti, e di *Weidenreich*, che l'omento è un apparecchio linfoide esteso in superficie.

Io ho voluto anzitutto studiare gli elementi cellulari degli essudati peritoneali, facendo uso della colorazione vitale col trypanblau, per controllare i dati dei succitati autori, e sopratutto per vedere meglio il contingente dato alla formazione degli essudati

stessi da elementi istogeni e da elementi ematogeni a seconda di certe modalità della flogosi: ho iniettato nel peritoneo a cavie colorate vitalmente col trypanblau secondo il solito metodo (v. mia memoria precedente) della tubercolina (A. T. di *Koch*), studiando l'essudato relativo dopo 12-24 ore, e differenziando queste tre serie di esperienze: cavie iniettate per la prima volta con tubercolina, cavie precedentemente già trattate colla stessa tubercolina, cavie previamente rese tubercolose. Di ogni animale ho studiato l' essudato a fresco e su strisci fissati in formolo 10 °/$_0$ o in Schaudinn e colorati col carmallume o col Giemsa; inoltre l' omento, fissato in formolo, in alcool o in *Zenker*, incluso in paraffina, e colorato con carmallume, talora anche con emallume-eosina e coll' *Unna-Pappenheim*. Successivamente ho voluto vedere come l'omento si comportasse di fronte alla iniezione non più di prodotti bacillari, ma di bacilli vivi e virulenti: a tale scopo ho inoculato a cavie e ad alcuni conigli colorati vitalmente il bacillo di *Koch* nel peritoneo, anche qui comparando gli effetti della iniezione in animali *nuovi* con quelli della iniezione in animali previamente tubercolizzati o previamente trattati con tubercolina. Di ogni animale ho studiato al solito comparativamente l'essudato (a fresco e su strisci colorati) e l' omento coi detti metodi: punto questo importante e, come rileva opportunamente il *Burnet*, trascurato da molti autori, che hanno studiato o solo l'essudato libero o solo l'omento ed il peritoneo.

Riporto i resultati nella forma più succinta possibile.

* * *

I. *Cavie nuove inoculate con tubercolina nel peritoneo* (in numero di 5, pesanti sui 300-400 gr.; dose di tubercolina A. T. iniettata: 0,5-1,0 cc.; uccise dopo 12-24 ore).

A fresco l' essudato offre dei leucociti polinucleati scolorati, degli elementi mononucleati piccoli, scolorati pure o con qualche granulino bleu nel protoplasma, e numerosi macrofagi grossi e medi, rotondi od ovali, talora assai irregolari di forma, con numerosi granuli bleu nel protoplasma. Anche a fresco spicca che i granuli hanno dimensioni

varie e intensità di colore diversa, che non è in rapporto colle dimensioni, perchè si vedono grossi granuli assai pallidi, che fanno l' impressione più di vacuoli pieni di liquido colorato, che di veri granuli compatti.

Noto che in due di queste cavie, cellule granulose, grosse, sul tipo di questi elementi peritoneali, furono vedute in scarso numero anche nel sangue del cuore prelevato alla necroscopia.

Anche sugli strisci colorati (formolo-carmallume) il reperto è identico: e si possono ancor meglio distinguere le seguenti categorie di elementi:

a) leucociti polinucleati (mai colorati vitalmente, tutto al più con qualche raro granulo bleu, dovuto evidentemente a fagocitosi di particelle di colore) (v. fig. 1, *n*);

b) macrofagi o *macroistiociti*: cellule grosse molto più dei leucociti, avendo un diametro di 12-20 μ ed anche più, ricche in granulazioni (o vacuoli?) di colore bleu, coi caratteri simili a ciò che si osserva a fresco; il nucleo è per lo più eccentrico, colorato in rosso dal carminio, talora nascosto più o meno dalle granulazioni bleu. È certo che questi elementi sono attivi fagociti; e, fatto non citato nè da *Goldmann* nè da altri, ma evidentissimo nei miei preparati, la fagocitosi si esercita spessissimo a carico dei polinucleati, il cui nucleo caratteristico, più o meno alterato, si riconosce spesso entro la massa protoplasmatica dei macrofagi, per lo più incluso come dentro un vacuolo chiaro (v. fig. 1, *a*, *b*, *c*). L'origine di questi macrofagi dalle cellule granulose (o cellule pirroliche di *Goldmann*, o cellule ragiocrine di *Renaut*, o clasmatociti di *Ranvier*, o cellule avventiziali di *Marchand*, o istiociti di *Aschoff*) dell'omento è indubbia: nelle sezioni di omento si vedono benissimo le cellule granulose subire come un arrotondamento, riunire per così dire i loro granuli, farsi quindi come più compatte, tendere alla superficie libera omentale e passare in cavità coi caratteri dei macrofagi quali li ritroviamo negli strisci dell' essudato. Nella fig. 1 abbiamo in *g* una delle più grosse cellule granulose omentali; proprio accanto si osserva (stessa figura 1, *h*) un grosso macrofago, a granulazioni grosse e fitte, che rappresenta la *fase di mobilitazione* della cellula granulosa, la grossa cellula migrante che dallo stato

di riposo torna attivamente mobile sotto l' influenza di un particolare stimolo. Anche fra i macrofagi trovantisi tuttora entro il tessuto omentale, si scorgono talora figure di fagocitosi a carico di polinucleati o di linfociti, come se ne vedono fra i macrofagi liberi in cavità. In conclusione colla colorazione vitale si conferma riguardo ai macrofagi la loro origine da elementi istogeni mobili o mobilizzabili dell' omento e forse di tutto il peritoneo, come già l' avevano supposta e discussa più o meno chiaramente molti anni fa *Marchand*, *Dominici*, *Beattie*, *Muscatello* e quindi i già citati Autori più recenti. Ma sopratutto la colorazione vitale permette di escludere recisamente la compartecipazione, più o meno ammessa da qualche autore, delle cellule di rivestimento del peritoneo e dell'omento alla genesi dei macrofagi: infatti dette cellule si ritrovano non di rado nell' essudato, nè si esclude che possano anzi talora proliferare e trovarsi in quantità notevole; ma esse non sono colorabili vitalmente, o presentano tutto al più qualche minuto e sparso granulino bleu (fig. 1, *f*); e per questo carattere di quasi assoluta cromofobia (anche di fronte al pyrrholblau secondo *Goldmann* ed al carminio secondo *Kiyono*) si differenziano nettamente dai macrofagi e loro cellule madri. Del resto nella cavità peritoneale di cavie iniettate con sola tubercolina, la desquamazione di cellule piatte di rivestimento è scarsissima ed elementi ad esse riferibili sono di rado visibili;

c) linfociti piccoli e grandi, coi caratteri di quelli che si vedono nei vasi, colorati solo in rosso dal colore di contrasto. In queste cavie sono scarsi, abbondando più in altre serie sperimentali; ma pure, o scarsissimi o numerosi, in tutte le cavie da me studiate, trattate con tubercolina una o più volte, o con bacilli e tubercolina, ecc., sempre se ne scorgono, ben riconoscibili per quei caratteri del nucleo e del protoplasma, che è possibile mettere in evidenza con la fissazione in formolo e la colorazione col carmallume (v. fig. 1, *l*, *m*). Nei preparati secondo il metodo di *Giemsa* purtroppo la colorazione vitale mi è parsa non risaltare bene; e, per mantenere intatta questa, mi è sembrato non potere allontanarmi sostanzialmente dai precetti di *Goldmann*, che, bisogna riconoscerlo, non permettono uno studio citologico fine a causa dell'azione dannosa del formolo. Comunque anche con questi metodi si può diagnosti-

care il linfocita, ad origine ematogena sicura; e non c'è niente di strano che di tali elementi siano negli essudati, dappoichè manicotti di linfociti si vedono attorno ai vasi omentali, e oggi sembra necessario ammettere un certo potere migratorio anche di queste cellule;

d) Elementi mononucleati delle dimensioni di linfociti grandi o piccoli, talora molto simili in tutto a questi, ma con più o meno sviluppata granulazione bleu; talora con protoplasma più abbondante, sempre contenente una maggiore o minore quantità di granuli, e nucleo relativamente più piccolo e meno compatto. Questi elementi, specialmente quelli più protoplasmatici, e con più netta colorazione vitale, possono senz'altro identificarsi coi macrofagi per origine e natura: si può ammettere con *Pappenheim*, *Marchand* ed altri che derivino da divisione (che io credo più spesso amitotica) dei macrofagi, cui somigliano in tutto, tranne che nelle dimensioni più piccole, e possiamo chiamarli *microistiociti* a designarne l'origine e le dimensioni relative: sono questi e questi soli gli elementi, per cui vale l'affermazione di *Pappenheim*, che certe cellule più o meno linfocitosimili degli essudati possono essere di origine istogena (fig. 1, *i*);

e) un piccolo numero di elementi, che per la forma, le dimensioni, i caratteri del protoplasma e del nucleo somigliano ai linfociti, ma offrono però qualche granulo di colore vitale: derivano essi dai macrofagi, sono dunque anch'essi dei microistiociti, solo meno provvisti di granulazioni, oppure sono linfociti, in cui sono penetrate in seguito a fatti necrobiotici delle particelle di trypanblau, allo stesso modo che questo forma talora precipitati o tinge diffusamente tessuti necrotici e cellule morte, oppure infine sono linfóciti che hanno fagocitato attivamente delle masse di colore? Quest'ultimo processo non è punto inverosimile, poichè vediamo talora granuli di colore anche entro i polinucleati, certamente in seguito a fagocitosi, e non sòlo negli essudati, ma anche entro a polinucleati circolanti di animali colorati intensamente (in cui il colore può formare dei precipitati intravasali, che vengono poi fagocitati come altro materiale inerte qualunque); e d'altra parte si può ammettere che anche i linfociti abbiano, sebbene in minor grado dei polinucleati, un certo potere fagocitario. Una discrimi-

nazione esatta di queste varie possibilità non è possibile dai miei preparati; e dobbiamo quindi riconoscere che resta un piccolo numero di elementi per cui anche la colorazione vitale non conduce ad una decisione sicura sull' origine istogena od ematogena, a causa principalmente della poco intensa riescita della colorazione stessa (v. fig. 1, *d*, *e*).

In questo gruppo di cavie il rapporto numerico fra queste varie categorie di cellule è un po' oscillante: in media può dirsi che su 100 elementi dell'essudato, 60 sono colorati vitalmente (macro- e microistiociti), 30 sono polinucleati, 10 sono elementi dubbi o (di rado) tipici linfociti ematogeni.

II. *Cavie iniettate 2 volte con tubercolina nel peritoneo* (6 cavie sono iniettate ciascuna con 0,2 cc. tubercolina A T. nel peritoneo; quindi sono reiniettate dopo 20 giorni con 0,5-1,0 cc. della stessa tubercolina; dopo 24-30 ore sono tutte uccise).

All' esame a fresco e su preparati fissati dell' essudato, non si rilevano gran differenze in confronto alle cavie iniettate per la prima volta colla tubercolina: la differenza più netta consiste in una rappresentanza un po' maggiore degli elementi ematogeni o cromofobi (polinucleati e veri linfociti) che sono all' incirca in numero eguale a quelli istiogeni o cromofili. Nell' omento si scorgono benissimo anche qui i vari stadi per cui passano gli istiociti nella loro mobilitazione e trasformazione in macrofagi intracavitari. Qui come nelle cavie precedenti io non credo che accada *entro l'omento* una moltiplicazione degli elementi granulosi su vasta scala: se il numero di tali cellule sembra aumentato rispetto ad un omento normale, ciò si deve forse più che altro al loro ingrossamento, alla loro maggior ricchezza in granuli, alla loro tendenza ad accumolarsi in certi punti e specialmente sotto le cellule piatte di rivestimento, verso la superficie libera. Naturalmente non escludo che i grossi istiociti si moltiplichino, sopratutto quando sono doventati elementi liberi intracavitari, per dare origine, come vuole *Pappenheim*, ai microistiociti; ed anzi ho già detto che ritengo più probabile, piuttosto che per cariocinesi, per dei processi di amitosi, che meglio si conciliano coi reperti e coll'andamento tumultuariamente rapido del processo.

Da questa serie sperimentale risulterebbe che la precedente sensibilizzazione degli animali colla stessa tubercolina non modifica

molto la reazione peritoneale: tutto al più accentua leggermente i fatti essudativi veri e propri (emigrazione dai vasi di leucociti e linfociti), come io ho veduto verificarsi per altri agenti flogogeni in organismo allergico (v. mia memoria precedente).

III. *Cavie infettate con tubercolosi e iniettate con tubercolina* (3 cavie di circa 300 gr. di peso iniettate nel peritoneo con 0,1 mgr. di massa bacillare da culture di 20 giorni in brodo glicerinato, e dopo 21 giorni inoculate con 0,8 cc. di tubercolina [A. T.] pure nel peritoneo; dopo 18 ore sono morte. 3 cavie pure sui 300 gr. di peso iniettate nel peritoneo con 0,2 mgr. di massa bacillare da culture come sopra, e dopo 14 giorni iniettate nel peritoneo con 0,8 cc. della stessa tubercolina; dopo 18 ore sono morte.

Queste cavie offrono alla necroscopia l'omento fortemente ispessito, e più le tre tubercolinizzate e morte dopo due settimane di infezione tubercolare, che non quelle morte dopo tre settimane, forse perchè queste ultime ebbero una dose minore di cultura bacillare. In tutte si hanno nodulini minimi nella milza e qua e là nel peritoneo. Il ceppo di tubercolosi da me usato proviene dall' Istituto sieroterapico milanese ed ha una mediocre virulenza: ha tutti i caratteri morfologici e culturali del *tipo umano*.

Già macroscopicamente si osservava nella cavità peritoneale di queste cavie tubercolose morte per azione della tubercolina un essudato con carattere emorragico. Tale essudato all'esame a fresco e su strisci colorati, offre assai emazie; inoltre i soliti macrofagi e numerosi leucociti e linfociti cromofobi: nelle tre cavie uccise colla tubercolina due settimane dopo l'infezione i macrofagi sono circa il 50 % delle cellule libere dell' essudato (astrazione fatta dalle emazie), il resto è dato da numerosi polinucleati e parecchi linfociti, mentre scarsi sono i microistiociti. Nelle cavie morte alla terza settimana dalla infezione, i macrofagi sono ancor meno, ed i due terzi buoni delle cellule dell'essudato (astrazione fatta dalle emazie) sono elementi ematogeni, cioè cromofobi. Si noti che la colorazione vitale (praticata nei giorni precedenti alla iniezione di tubercolina, come è naturale) era molto intensa in tutta questa serie di cavie; ed all'esame istologico degli organi interni appaiono benissimo colorate dal trypanblau le cellule del *Kupfer* del fegato e le cellule reticolari della milza. Ciò fa risaltare ancor più la relativa deficienza della reazione macrofagica, quale appare all'esame dell'essudato libero ed all'esame dell'omento in sezioni. Ivi si vedono

ovunque fitte infiltrazioni formate da linfociti in prevalenza; poi leucociti polinucleati, plasmazellen; cellule grosse e protoplasmatiche, mal differenziabili e solo definibili col termine generico ed inesatto di cellule epitelioidi (generalmente cromofobe); rarissime cellule giganti. Si ha dunque a fare con una infiltrazione tubercolare piuttosto diffusa, prevalentemente a tipo linfoide, cui nessun contributo è portato da elementi colorati vitalmente. Non occupandoci per ora del processo tubercolare in se, dobbiamo dire che la reazione tubercolinica non ha interessato notevolmente le cellule di origine istogena, ma ha anzi prodotto una accentuazione di fatti essudativi nel senso classico, conducendo e nel tessuto tubercolare e nei pressi di questo ad una intensa infiltrazione per parte di elementi ematogeni, che si ritrovano anche assai numerosi nella cavità peritoneale, ove, in specie nelle cavie tubercolose da più tempo, essi superano numericamente i macrofagi (i quali naturalmente non mancano mai e compaiono per l'azione irritante della tubercolina anche negli organismi non tubercolosi).

Devo ricordare, che nell'essudato di queste cavie si osserva anche una certa abbondanza di elementi di rivestimento del peritoneo desquamati.

In complesso questi reperti concordano con quelli più antichi, ottenuti coi comuni metodi istologici, secondo cui sostanzialmente la tubercolina nell'organismo infetto produce una flogosi acuta attorno e nel tubercolo, che si infiltra riccamente e più del solito con quelli elementi, che vanno sotto il nome generico di cellule rotonde (*Ziegler*, *Kromeyer*, *Hansemann*, *Ackermann*, *Riehl*); e colle ricerche condotte da *Bandler* e *Kreibich*, *Daels*, *Burnet*, sulla istologia della papula da iniezione intracutanea della tubercolina, che pure pongono in evidenza una infiltrazione linfocitica e polinucleare, insieme a fatti necrotici o anche proliferativi locali. Le ricerche condotte negli animali colorati vitalmente precisano meglio questi fatti, facendoci riconoscere che la tubercolina nell'animale tubercoloso non mobilizza più che nel normale (confronta la mia serie sperimentale I colla III) gli elementi istogeni, ma bensì provoca una affluenza di elementi ematogeni, che sono in parte notevole linfociti e in parte secondo me minore polinucleati, avendosi però differenze da animale ad animale nei rapporti reciproci fra queste due specie di elementi d'origine intravasale.

IV. *Animali inoculati con tubercolosi.* Sono state inoculate

con tubercolosi tipo umano (ceppo Istituto sieroterapico milanese) 6 cavie per via intraperitoneale (0,2 mgr. patina da cultura di 20 giorni in brodo glicerinato); poi sono state uccise ad intervalli diversi, e precisamente 2 dopo 24 ore, 2 dopo 3 giorni, 2 dopo 15 giorni, per studiare il processo tubercolare nelle varie fasi, specialmente nelle iniziali. La colorazione vitale era stata intrapresa per ogni cavia qualche giorno prima dell' uccisione. Qualche altra cavia è stata inoculata con tubercolosi, ma è morta precocemente, prima di avere una buona colorazione vitale.

Inoltre ho inoculato 6 conigli con tubercolosi per via intraperitoneale: e precisamente 3 con un ceppo di tipo umano avuto alla fine del 1914 per la gentilezza del prof. *Gosio* dai Laboratori della sanità pubblica di Roma e 3 con un ceppo di tipo bovino della stessa provenienza; i conigli non ricevettero dosi accuratamente pesate, ma semplicemente emulsioni molto diluite di patina da cultura su siero glicerinato.

In tutti questi conigli si cominciarono le iniezioni di soluzione 1 °/₀ di trypanblau quasi subito dopo la infezione: alla loro morte erano tutti discretamente, alcuni fortemente colorati.

Per l' apprezzamento della virulenza dei germi basterà sapere che dei 3 conigli iniettati con ceppo bovino, uno morì dopo 16 giorni, presentando già dei minimi nodulini nel fegato e nell' omento; uno dopo 26 giorni con reperto consimile; uno fu ucciso dopo 33 giorni, e risultò molto diminuito di peso, con omento fortemente ispessito e con nodulini tubercolari nel fegato e milza. Dei 3 conigli inoculati con tubercolosi umana, nessuno mori spontaneamente: uno fu ucciso dopo 23 giorni e due dopo 26, e, mentre due non presentarono lesioni macroscopicamente visibili, uno presentò nodulini minimi nell'omento, fegato e milza.

Infine ho colorato fortemente 5 conigli; poi ho iniettato a 3 nel peritoneo 2 cc. di una densa emulsione in soluzione fisiologica di bacilli tipo umano (ceppo Roma) per ciascuno, e li ho uccisi 2 dopo 24 ore, uno dopo 4 giorni. A 2 ho iniettato una emulsione pure densa di bacilli tipo bovino (ceppo Roma) nel peritoneo, pure in dose di 2 cc. per ciascuno, e quindi dopo 24 ore li ho uccisi.

Su questo materiale (6 cavie, 11 conigli) ho studiato la rea-

zione omentale e sulle cavie in particolare la composizione dell' essudato di fronte al bacillo tubercolare.

Senza dilungarmi nell' esposizione di fatti già noti da ricerche condotte con altri metodi, dirò che l'essudato peritoneale nelle cavie in seguito alla iniezione di bacilli tubercolari offre i medesimi tipi di elementi veduti in seguito alla iniezione di tubercolina; anche i rapporti quantitativi non sono molto diversi: solo che, se la cavia fu uccisa dopo 3 giorni o più dall' inoculazione dei germi, sembrano un po'più numerose le forme linfocitarie vere, cromofobe; ma, siccome il numero delle esperienze non è grande, non sono autorizzato a dare valore a piccole differenze di percentuali. Piuttosto i macrofagi sembrano qui di regola meno grossi che non dopo l' iniezione di tubercolina: in ispecie nelle 2 cavie infettate 24 ore avanti di essere uccise, i macrofagi sono di regola sul tipo medio, mentre sono rare le forme molto grosse. Entro questi macrofagi di tipo medio e nei pochi di tipo grosso, si vedono spesso dei bacilli (metodo di *Ziehl*), di sovente presentanti alterazioni, tendenza a disfarsi in granuli, scarsa colorabilità, ma talora invece del tutto normali per aspetto e non di rado riuniti a gruppetti entro la stessa cellula. Rarissimi sono i bacilli liberi nell' essudato, ben di rado inclusi entro polinucleati. I macrofagi inglobanti più bacilli offrono talora scarsi granuli di colore vitale, e questi pallidi; e non credo di sbagliare attribuendo la riduzione della colorabilità vitale di tali cellule alla presenza dei bacilli e ad una azione dannosa o comunque alterante esercitata da questi sul protoplasma dei macrofagi, che così modifica la sua affinità per il colore (*Goldmann*).

Se si studiano le sezioni di omento, tanto nella cavia che nei conigli, troviamo che, se l'animale è stato ucciso da 24 ore a qualche giorno dopo l' inoculazione, nel tessuto omentale ha luogo una larga mobilitazione di quelli elementi granulosi che hanno i soliti caratteri delle cellule pirroliche o cellule mobili istogene: esse si ipertrofizzano, il loro protoplasma si fa ricco più del solito di granuli a dimensioni straordinariamente grosse, si arrotondano, si moltiplicano già nel l'omento, tendono a portarsi verso la cavità peritoneale, costituendo i detti macroistiociti ed i microistiociti. Come era da desumersi dai descritti reperti nell' essudato, ha luogo nell' omento una vera reazione da parte degli elementi istogeni: e ciò vale nelle cavie e nei conigli, e, per questi, tanto di fronte al poco virulento tipo bacillare umano, quanto di fronte all'assai virulento tipo bovino.

Io dunque non ho potuto osservare come *Goldmann* una differenza nel tipo di reazione a seconda del tipo bacillare e della ricettività dell'animale per i diversi tipi : questo Autore invece studiando nei topi colorati vitalmente la tubercolosi sperimentale, notava che in seguito ad iniezioni di bacilli umani (poco virulenti) si formavano nell'omento e nel fegato noduli dati da accumoli di macrofagi carichi di bacilli, mentre in seguito ad iniezione di bacilli bovini (virulentissimi) la compartecipazione dei macrofagi era minima, i bacilli erano piuttosto assunti da polinucleati, si diffondevano principalmente in via ematogena e si costituivano sopratutto noduli formati da trombi leucocitari intravasali ed accumoli perivasali di linfociti. Mentre però *Goldmann* studiava il processo quale appariva dal reperto *terminale* offerto dall'animale morto spontaneamente, io ho studiato la risposta del tessuto omentale anche nelle prime giornate dopo la infezione : e mi pare di potere ammettere, che nel coniglio e nella cavia, qualunque sia il tipo bacillare usato, la reazione da parte di elementi istogeni è sempre precoce ed evidente. Nella fig. 3 si ha il reperto omentale 24 ore dopo l'iniezione dei bacilli umani nella cavità peritoneale del coniglio : non c'è alcuna particolare infiltrazione di linfociti o leucociti, anzi si direbbe che le cellule granulose sono quasi sole ad occupare le maglie del connettivo lasso omentale. Nella fig. 4 si scorgono grosse cellule cromofile ed alcune cromofobe contenenti bacilli, e si tratta di un reperto in terza giornata dall'infezione di una cavia: e per le poche cellule senza granuli, grosse e protoplasmatiche, può discutersi se si abbia a fare con elementi primitivamente istogeni e granulosi ma *denaturati* dei veleni bacillari in modo da perdere l'affinità tintoriale specifica o con elementi d'altra origine, forse con evoluzione particolare di elementi ematogeni a veri poliblasti. Per le grosse cellule contenenti bacilli la prima ipotesi è di gran lunga la più probabile: infatti c'è tutta una gradazione fra cellule a granuli e bacilli e cellule con bacilli senza o con pochissimi granuli.

Comunque sia, ed in armonia coi dati di *Joest*, anche nell'omento, che ha colle ghiandole linfatiche da *Joest* studiate qualche analogia (*Weidenreich*), le prime a risentire della influenza dei bacilli tubercolari sono le cellule colorabili vitalmente, le cellule istogene; mentre gli elementi della serie linfoblastica e leucocitaria non aumentano in primo tempo e solo dopo 3 giorni nelle cavie comincia ad avvertirsi qua e là nel tessuto la formazione di infiltrati linfocitari perivasali.

Se invece si considerano le cavie morte più tardi e sopratutto i conigli morti dopo qualche settimana dall' infezione, allora il quadro è del tutto diverso : i tubercoli, ormai ben costituiti, hanno il tipo linfoide o misto, ed offrono ricchi infiltrati linfocitari ; ed anche fuori dei veri tubercoli, lungo i vasi, si scorgono manicotti di infiltrazione, in cui (preparati alla *Unna–Pappenheim* da pezzi fissati in alcool) non sono rare le plasmacellule, specialmente nella parte periferica dell' infiltrato. Ma elementi colorati vitalmente proprio nel tubercolo a questo periodo non se ne scorgono o si scorgono solo alla periferia, nella zona di transizione al tessuto normale. Le figure 5 e 6 mostrano a piccolo ingrandimento dei tubercoli tipici nel coniglio (da bac. umano e da bac. bovino), col centro necrotico, colorato in bleu, con una zona di cellule epitelioidi e linfoidi più o meno commiste e con poche cellule granulose (bleu) alla periferia. Scarsissimo è il reperto di cellule giganti, e queste mai molto grosse e mai con granuli bleu.

In questa struttura del tubercolo ci sono due cose da spiegare : il colore bleu della zona necrotica centrale, e la natura delle cellule a tipo epitelioide, cromofobe, commiste più o meno a linfo- e leucociti. Il colore bleu della massa necrotica può spiegarsi colla tendenza di tutti i tessuti necrotizzati ad assumere una colorazione *diffusa* (non più granulare) col trypanblau (*Steckelmacher*) ; fatto accentuato qui anche dalla circostanza verosimile, che nel centro necrotizzato del tubercolo siano incluse le cellule istogene che hanno fornito per così dire il primo nucleo del tubercolo e che per prime si sono necrosate mettendo in libertà il colore da esse fissato. Sulla natura di grosse cellule protoplasmatiche chiare, a nucleo variamente conformato, per lo più unico, meno cromatinico di quello dei linfociti, che possiamo genericamente chiamare *epitelioidi* e che si trovano (non abbondanti) nei tubercoli frammiste ai linfociti (tubercoli misti, a prevalenza però linfoidi), non è facile pronunziarsi : sono cellule non tocche dalla colorazione vitale, ed a prima vista potrebbero essere ritenute come elementi sul tipo di *poliblasti* ematogeni nel senso di *Maximow*. Ma, tenendo presente che anche cellule cromofile possono per l'azione tossica bacillare perdere la loro caratteristica colorabilità, non si può escludere che fra queste grosse cellule chiare a tipo epitelioide parte o tutte non siano cellule istogene così modificate. *Goldmann* ammette questa trasformazione degenerativa delle cellule pirroliche solo quando esse siano largamente invase da bacilli viventi ; ed anche a me pare molto presumibile l' origine istogena di quelli elementi agranulosi che contengono bacilli, quali si vedono per esempio nella fig. 3. Il

dubbio è più forte per quelle cellule a tipo epitelioide che non contengono bacilli, che si vedono per esempio nei tubercoli contenenti scarsissimi bacilli: tanto più che nei miei animali ho ottenuto più spesso tubercoli a bacilli scarsissimi e semmai raccolti nella zona necrotica centrale. Ora veramente fatti degenerativi profondi si avevano anche nei tubercoli con scarso numero di bacilli visibili, come dimostra l'estensione della necrosi caseosa al centro degli infiltrati tubercolari medesimi; e d'altro lato su sezioni di questo materiale (conigli) tagliate al congelatore e colorite col Sudan III, non è rara la presenza di goccioline di materiale sudanofilo (lipo-lipoidale) entro le cellule granulose, in specie là dove i granuli sono rari, ed entro rare grosse cellule non granulose sul tipo epitelioide, a testimoniare la trasformazione probabile, in seguito a fatti necrobiotici, di granuli colorabili vitalmente in materiale lipo-lipoidale, che si accumola nelle cellule, analogamente a quanto ha osservato *Goldmann* nel tubercolo ed altrove e a quanto recentemente descrive *D'Agata* nel nodulo sporotricotico.

Sicchè in conclusione per un numero, certo non rilevante, di elementi si resta in dubbio sulla loro genesi, anche colla colorazione vitale; ma ad ogni modo questo mi pare risultare nettamente: che in una prima fase il bacillo mobilizza i macrofagi peritoneali, i quali accumulandosi e probabilmente moltiplicandosi in determinati punti, costituiscono il primo nucleo del tubercolo; quindi in una seconda fase entrano in scena principalmente fenomeni essudativi a carico dei linfociti, che formano infiltrati nel tubercolo ed attorno a questo; ed insieme si affermano i noti fatti necrotici nel centro dei tubercoli appena costituiti. In fondo si confermano per l'omento i reparti ottenuti da *Joest* per le ghiandole linfatiche e da *Evans*, *Bowman* e *Winternitz* per il fegato: lì sono le cellule reticolari, qui le cellule del *Kupfer*, elementi colorabili vitalmente al pari dei clasmatociti omentali o cellule pirroliche, che formano primitivamente il tubercolo, cui poi possono aggiungersi linfociti emigrati dai vasi o elementi meno ben definiti che anche i tre Autori americani chiamano poliblasti (poliblasti di *Wallgren*, perchè questo Autore ha sostenuto l'origine linfocitaria esclusiva del tubercolo), e sulla cui origine la colorazione vitale non può darci lume, per le ragioni svolte. Cellule giganti io ne ho ottenute così scarsamente, che non mi credo autorizzato a po-

tere discuterne l' origine; valgono però le stesse considerazioni già fatte per le cellule epitelioidi indifferenti degli stadi avanzati: anche per esse può dirsi che la assenza di cromofilia non giustifica affatto un'origine da elementi cromofobi, ma può spiegarsi colla natura profondamente patologica di questi elementi, il cui protoplasma può aver perso il potere fissatore per il colore in conseguenza di fatti alterativi diversi.

Noto che nelle cavie di questa serie e nei conigli meglio colorati ho visto durante la vita nel circolo sanguigno degli elementi monucleati, grossi assai, di forma talora non proprio rotonda, ma o allungata o irregolarmente poligonare, nettamente provvisti di granulazioni bleu, spesso simili in tutto ai macrofagi peritoneali: si deve trattare secondo me di elementi entrati in circolo dal peritoneo, non di elementi preesistenti nel sangue ed *ivi* coloratisi vitalmente.

V. *Cavie trattate con tubercolina, eppoi inoculate con tubercolosi* (2 cavie hanno ricevuto il 29 ottobre 1915 nel peritoneo 0,2 cc. di tubercolina A. T., ed il 13 novembre 1915 ancora 1,0 cc.; il 9 dicembre 1915 ricevono nel peritoneo 1 mgr. di patina bacillare — ceppo Milano — da cultura su siero glicerinato, e così pure sono inoculate egualmente con tubercolosi due cavie normali di controllo, esse al pari delle altre colorate vitalmente: dopo 5 ore le cavie di controllo e le 2 trattate due volte con tubercolina, sono uccise. 4 cavie sono inoculate con 1,0 tubercolina il 15 novembre 1915 ed il 10 dicembre 1915, cioè dopo 25 giorni, sono iniettate con 1 mgr. di patina bacillare come sopra, al pari di 2 cavie controllo non trattate con tubercolina: tutte sono uccise dopo 24 ore). Questa serie sperimentale ha lo scopo sopratutto di vedere, se, come *Arima* e *Sakamura* hanno sostenuto, il trattamento preventivo degli animali con prodotti bacillari (tubercoline) è in grado di modificare in qualche modo la reazione organica di fronte alla iniezione di bacilli nel peritoneo, accentuando o provocando, come vogliono gli Autori giapponesi, fatti bacteriolitici, o con altro meccanismo.

Ho veduto che, tanto nei controlli che nelle cavie trattate con tubercolina, l'essudato offre i soliti elementi già descritti più volte; ed i bacilli scompaiono rapidamente dalla cavità peritoneale, trovan-

dosi già dopo 5 ore dalla iniezione a prevalenza entro le cellule (macrofagi e polinucleati) dell'essudato o dell'omento: insomma si osserva al solito una rapida fagocitosi dei bacilli. Non saprei associarmi all'opinione di *Arima* e *Sakamura*, che i fagociti servano sempre di protezione ai bacilli, perchè, se talora se ne vedono dei ben conservati entro i macrofagi ed i leucociti, altre volte invece i bacilli offrono dei ben netti fatti degenerativi. Fra cavie trattate con tubercolina e cavie nuove poi l'unica differenza è questa: che nelle seconde la reazione macrofagica predomina sulla polinucleare e linfocitica, come di regola accade nelle cavie iniettate con bacilli tubercolari o loro prodotti in questi precocissimi stadi della infezione; mentre invece nelle prime si accentua un po' più la reazione da parte degli elementi ematogeni: nell'essudato libero sono i leucociti polinucleati assai numerosi (circa 50-60 °/₀) e nelle sezioni di omento già dopo 5 ore si osservano discrete infiltrazioni linfocitarie quali nelle cavie nuove si riscontrano appena al 3° giorno (v. serie sperimentale IV).

Di formazione di bacteriolisine, come vorrebbero *Arimà* e *Sakamura*, non saprei dunque vedere le prove: i bacilli liberi scompaiono rapidamente nelle due specie di cavie, ma, come dirò tosto (Serie VI), credo più che altro perchè essi vengono fagocitati e trasportati nelle vie linfatiche dell'omento.

VI. *Cavie trattate con bacilli tubercolari vivi, eppoi reiniettate coi medesimi* (6 cavie sono state iniettate con 0,1 mgr. di patina bacillare da cultura su siero glicerinato — ceppo Roma — nel sottocutaneo della coscia; dopo 20 giorni, quando offrivano già manifestazioni ghiandolari e dimagramento, iniezione nel peritoneo di 0,2 mgr. di patina bacillare id.; 3 vengono uccise dopo 24 ore, 3 dopo 72 ore; contemporaneamente a queste si inoculano con eguale dose nel peritoneo 4 cavie nuove con 0,2 mgr. di patina bacillare id., e si uccidono 2 dopo 24 e 2 dopo 72 ore. La colorazione vitale era forte tanto nelle prime cavie che in queste ultime di controllo).

Questa serie sperimentale ha lo scopo di contribuire a chiarire la grave e dibattuta questione della *tubercolosi da reiniezione:* si sa che *Koch* aveva osservato già dal 1890 la tendenza alla guarigione della tubercolosi da reiniezione, cioè delle lesioni prodotte con una seconda infezione in organismo (cavia) già tubercoloso:

successivamente alle esperienze fondamentali di *Koch*, le ricerche di *Detre-Deutsch*, *Feistmantel*, *Della Cella*, *Weleminsky*, *Kraus* e *Gross*, *Löwenstein*, *Hamburger*, *Hamburger* e *Toyosuku*, e sopratutto di *Römer*, hanno confermato la relativa immunità degli animali già tubercolosi di fronte ad una nuova infezione; ed anche per animali di grossa taglia (bovini) recenti esperienze parlerebbero in modo indiscutibile per la stessa legge (*Finzi*). Ora quale è la base di questa immunità relativa degli animali già infetti? Secondo *Kraus* ed *Hofer* si ha a fare con una vera immunità bacteriolitica, condizionata dalla prima infezione; anzi secondo *Arima* e *Sakamura* basterebbe il trattamento preventivo degli animali con bacilli morti o loro prodotti a provocare nell'organismo abbondante produzione di bacteriolisine, che spiegherebbero la rapida lisi dei bacilli iniettati la seconda volta. Secondo *Kraus* ed *Hofer*, nel peritoneo delle cavie tubercolose, si potrebbe osservare un vero *fenomeno di Pfeiffer* a carico dei bacilli della reiniezione. Questa spiegazione puramente umorale della immunità non è accettata da *Manwaring* e *Bronfenbrenner*, che sostengono una azione litica delle cellule peritoneali, dimostrabile anche *in vitro*; e da *Rist*, *Leon-Kindberg* e *Rolland*, che pure sostengono una specie di immunità particolare della sierosa degli animali già infetti; e specialmente è stata di recente combattuta da *Burnet*, il quale sostiene che la più rapida scomparsa dei bacilli reiniettati nel peritoneo di cavie tubercolose in confronto a quella dei bacilli iniettati in cavie normali è dovuta alla reazione tubercolinica che le cavie già infette presentano, consistente in un forte afflusso di leucociti, che rapidamente fagocitano i bacilli e li trasportano nelle vie linfatiche, sopratutto nell' omento.

Se è dubbia la bacteriolisi specifica dei germi per opera degli umori, se è discutibile la lisi per particolari proprietà biologiche degli elementi cellulari del peritoneo, anche la fagocitosi nel senso di *Burnet* non spiegherebbe la reale essenza della immunità e nemmeno dimostrerebbe assolutamente quest' ultima, perchè i bacilli della reiniezione potrebbero sempre restar vivi almeno in parte entro i leucociti e anzi produrre secondo *Burnet* stesso gravi lesioni omentali. *Löwenstein* conclude con ragione a proposito del *fenomeno di Koch* (immunità da infezione in atto di fronte alla

reinfezione) che esso non è spiegato e che la tubercolosi può paragonarsi sotto questo rispetto al carbonchio o alle tripanosomiasi, nelle quali pure la infezione in atto impedisce la superinfezione.

Le mie ricerche tendono soltanto ad accertare i fatti susseguenti immediatamente alla iniezione di bacilli in animali già tubercolosi, senza pretendere di accertare o spiegare la immunità reale; ed ecco cosa posso stabilire.

Nelle cavie controllo dopo 24 ore dalla iniezione non ci sono quasi più bacilli liberi nel peritoneo; se ne vedono alcuni nei macrofagi, pochi nei polinucleati, gli elementi cellulari dell' essudato essendo i soliti descritti già (Serie IV); non molti se ne vedono nell'omento e qui di regola entro cellule istogene, portatrici cioè di granuli colorati vitalmente, coll'avvertenza che questi granuli possono essere in certe cellule bacillifere scarsi per effetto della lesione cellulare, come ha ammesso anche *Goldmann;* pochi bacilli sono entro cellule epitelioidi non granulose, di origine e natura un po' incerta; ad ogni modo scarsi sono nell' omento gli elementi ematogeni, sicuramente tali (polinucleati, linfociti). Nelle cavie controllo al 3° giorno il reperto è lo stesso, solo che si cominciano a vedere qua e là infiltrati linfocitari nell' omento, in specie lungo i vasi. La fig. 4 dà molto bene idea della composizione cellulare dell' omento (3° giorno) là dove sono accumulati più bacilli, i quali hanno talora caratteri normali, tal'altra sono più o meno alterati: è la espressione netta e quasi pura di una reazione macrofagica, cointeressante cioè a prevalenza gli elementi istogeni.

Nelle cavie già tubercolose invece la reiniezione nel peritoneo porta ad una notevole essudazione di elementi a tipo per lo più di polinucleati: l'essudato peritoneale somiglia più a quello che si ha con germi piogeni, è formato nella sua parte solida per $^3/_4$ buoni di polinucleati; e, fatto interessante, sono a prevalenza questi che contengono bacilli, tanto nelle cavie uccise dopo 24 ore che, ancor più, nelle cavie uccise dopo 72. Nell' omento pure si ha un forte accumulo di elementi ematogeni, leucociti e linfociti; questi ultimi formano spessi infiltrati perivasali, come nelle cavie normali (v. Serie IV) non si osserverebbero che molto più tardi, per es. due settimane dopo l' infezione. E (come mostra la fig. 2) i bacilli anche nell' omento si trovano precipuamente entro o fra elementi ematogeni (cromofobi), fuori delle cellule granulose che sono del resto anche meno numerose.

Dunque io dovrei dire che la infezione precedente (e certo in

atto nelle cavie) ha modificato la reazione peritoneale nel senso di accentuare la reazione per parte degli elementi ematogeni (i polinucleati passano, come più mobili, in quantità maggiore in cavità, i linfociti infiltrano di più il tessuto omentale), o di accelerarla notevolmente rispetto a quanto accade negli animali normali. Mentre in quest' ultimi sono le cellule migranti istogene che tendono ad assumere in primo tempo la funzione fagocitaria, nelle cavie già tubercolose tale funzione pare assunta subito dai polinucleati, mentre anche i linfociti accorrono più rapidamente e, se anche non fagocitano energicamente i bacilli, possono avere importanza nel neutralizzarne i veleni. In fondo dunque i miei reperti concordano con quelli di *Burnet*, e, dato l' uso della colorazione vitale, discriminano meglio le funzioni di spettanza dei vari elementi cellulari e caratterizzano la modificazione della capacità reattiva dell' organismo per opera della infezione preesistente come una modificazione più cellulare che umorale e precisamente come una trasformazione della reazione macrofagica normale in una reazione leuco-linfocitaria, il cui vantaggio per l'organismo può essere dovuto a speciali proprietà biologiche antibacteriche delle cellule ematogene.

Non voglio negare che non si abbia anche una dissoluzione di bacilli liberi nella cavità peritoneale, come è stata dimostrata da ricerche di *Bail* e di *Markl* anche per animali normali; ma non mi pare di potere ammettere un aumento di tale lisi per opera di anticorpi bacteriolitici negli animali infetti, come vorrebbero *Kraus* ed *Hofer*, secondo cui la lisi si svolgerebbe nientemeno che in un' ora circa, perchè il numero di bacilli da me ritrovato 24 ore dopo l' iniezione peritoneale nell'essudato e nell'omento era presso a poco eguale nelle cavie nuove e nelle tubercolose e solo, come ho detto, ne differiva il modo di distribuzione fra i diversi tipi cellulari fagocitanti.

Conclusioni.

Le *cellule migranti istogene*, colorabili vitalmente, dell'omento forniscono i *macroistiociti* (o *macrofagi*) ed i *microistiociti* degli essudati peritoneali da iniezione intraperitoneale (cavia) di tuber-

colina o di bacilli tubercolari vivi; i microistiociti possono colle comuni colorazioni avere aspetto più o meno linfocitosimile, ma la colorazione vitale col trypanblau permette *quasi* sempre la distinzione fra tali elementi istogeni ed i veri linfociti ematogeni, che pure esistono negli essudati e sono cromofobi; negli essudati poi si hanno polinucleati ed elementi di rivestimento del peritoneo. I macrofagi esplicano spesso funzioni fagocitarie a carico dei polinucleati.

La reiniezione di tubercolina in animali già trattati colla tubercolina, o la iniezione di tubercolina in animali già tubercolosi o di bacilli tubercolari in animali trattati colla tubercolina, accentua la essudazione di elementi ematogeni, mentre non implica modificazioni importanti nella reazione istogena (formazione di macro- e microistiociti).

Nell' omento di cavie e conigli, il bacillo tubercolare (almeno dei ceppi da me posseduti) produce anzitutto una mobilitazione di elementi emigranti istogeni, colorabili vitalmente, che si accumolano a formare il primo nucleo dei tubercoli; quindi (dopo alcuni giorni) si svolgono fatti essudativi imponenti, per cui il tubercolo assume costituzione linfoide o mista, con scarsissima rappresentanza di elementi colorabili vitalmente.

La sostanza necrotica centrale assume un colore bleu diffuso. Per pochi elementi (alcune cellule epitelioidi) resta il dubbio sull' origine ematogena o istogena: ma è più probabile quest'ultima.

Nelle cavie rese previamente tubercolose per via sottocutanea, la reiniezione intraperitoneale di bacilli produce una forte e precoce essudazione di elementi ematogeni: mentre nelle cavie nuove sono gli elementi istogeni che nelle primissime fasi della infezione o nella cavità peritoneale o nell' omento fungono prevalentemente da fagociti, in queste cavie già tubercolose sono i polinucleati che fungono da fagociti e l' infiltrazione per parte di elementi ematogeni si svolge nell'omento con gran precocità. Non ho saputo trovare argomenti per una bacteriolisi specifica nel peritoneo degli animali già tubercolosi di fronte ai bacilli della reiniezione.

Queste esperienze mettono in evidenza che alla formazione di essudati (peritoneali) possono più o meno largamente contribuire cogli elementi ematogeni anche degli elementi istogeni, fatto questo che ci

a ricordare della *teoria della attrazione* di *Virchow*, la quale evidentemente conteneva qualcosa di vero e fu troppo dimenticata dai patologi sotto l' influenze delle idee del *Cohnheim.* Inoltre queste ricerche cercano di dimostrare che la risposta di fronte ad uno stimolo irritativo può variare a seconda dello stato dell'organismo e che generalmente sono gli elementi ematogeni che predominano in quelle reazioni, che si svolgono nell' organismo in stato di allergia, confermando così quanto io ho già veduto in mie precedenti ricerche condotte pure col metodo della colorazione vitale. La questione stessa del diverso decorso della tubercolosi da reinfezione in confronto a quello della tubercolosi nell'organismo vergine, rientra secondo me in questa legge generale, almeno per quanto riguarda le manifestazioni morfologiche.

Bibliografia.

Ackermann, Klin. Jahrb. Ergänzungsb., 1891.

Arima e Sakamura, Centralbl. f. Bakter. I Abt. Orig., Bd. 72. H. 4-5, 1913.

Aschoff, Verhandl. d. deutschen Pathol. Gesellsch., pag. 107, 16 Tagung, 1913.

Bandler e Kreibich, Deutsche med. Woch., n. 12, 1907.

Beattie, Journal of path. a. bacter., 1902.

Burnet, Compt. rend. Soc. d. Biol. T. LXII, pag. 1156, 1907.

Burnet, Annales de l'Institut Pasteur. T. 29, mars, n. 3, 1915.

Daels, Mediz. Klinik., n. 2, 1908.

D'Agata, Sperimentale, anno LXIX, fasc. 5, 1915.

Della Cella, Centralbl. f. Bakt. I Abt. Orig., Bd. 36.

Detre-Deutsch, Wiener Klin. Woch., n. 9, 1905.

Dominici, Arch. d. Médéc. exper. T. 14, 1902.

Evans, Bowman e Winternitz, Journal of exper. Medic. Vol. XIX, n. 3, 1914.

Feistmantel, Centralbl. f. Bakt. I Abt. Orig., Bd. 36.

Finzi, Comp. rend. Soc. de Biol. T. 68, pag. 704.

Goldmann, Die aüssere u. innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der vitalen Färbung. H. Laupp, Tübingen.

Goldmann, Neue Untersuchungen ueber die aüssere und innere Sekretion.... H. Laupp, Tübingen.

HAMBURGER, Beitr. z. Klinik der Tuberkulose, Bd. 12.
HAMBURGER e TOYOSUKU, Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose, Bd. 18, H. 1.
HANSEMANN, Berlin. Klin. Woch., n. 5, 1891.
JOEST, Verhandl. d. deutschen Pathol. Gesellsch., 11 e 15 Tagung, 1907-1912.
KIYONO, Die vitale Karminspeicherung. Fischer, Jena, 1914.
KOCH R., Deutshe med. Woch., 1890-91.
KRAUS e GROSS, Centralbl. f. Bakter. I Abt. Ref., Bd. 42, 1908.
KRAUS e HOFER, Deutsche med. Woch., n. 26, 1912; Centralbl. f. Bakter. I Abt. Ref., Bd. 54, Beih.
KROMEYER, Deutsche med. Woch., n. 49, 1890; n. 8, 1891.
LÖWENSTEIN, Zeitschr. f. Tuberkulose, Bd. 10, 1906.
LÖWENSTEIN, Capitolo sulla immunità antitubercolare nel vol. 5 del Handb. d. pathog. Mikroorg. di KOLLE-WASSERMANN, 2ª ediz.
MANWARING e BRONFENBRENNER, Journal of exper. Med. Vol. 18, n. 6, 1913.
MARCHAND, Verhandl. d. deut. Path. Gesellsch., 16 Tagung, 1913.
MAXIMOW, Ziegler's Beitr., 5 Supplementh, 1902.
MUSCATELLO, Virchow's Arch., Bd. 142, 1895.
PAPPENHEIM, Folia haematol., Bd. 16, 1913.
PAPPENHEIM, Centralbl. f. allg. Pathol., Bd. 24, n. 22, 1913.
PAPPENHEIM e FUKUSHI, Folia haematol., Bd. 17, 1913-14.
RANVIER, Arch. d'Anat. microscop. T. 3, 1900.
RENAUT, Arch. d'Anat. microscopique. T. IX, fasc. 3-4.
RIEHL, Wiener Klin. Woch., n. 71, 1890.
RIST, LEON-KINDBERG, ROLLAND, Annales de Médéc. I, fasc. 3-4, 1914.
RÖMER, Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose, Bd. 13.
RÖMER, Sitzungsberichte d. ärztl. Vereins z. Marburg, 1908-909.
RONDONI, Sperimentale, anno LXIX, fasc. 6.
SCHOTT, Arch. f. mikrosk. Anatom., Bd. 74, 1909.
STECKELMACHER, Ziegler's Beitr., Bd. 57. H. 2, 1913.
VIRCHOW, cit. sec. LUSTIG e GALEOTTI, Patologia generale, 3ª ediz.
WALLGREN, Arb. a. d. pathol. Institut d. Universität Helsingsfors. III, 1911.
WEIDENREICH, Verhandl. d. Anat. Gesellsch. Würzburg, 1907.
WELEMINSKY, Berlin. Klin. Woch., n. 10, 1907.
ZIEGLER, Centralbl. f. allg. Pathol., Bd. 2, pag. 369, 1891.

Spiegazione delle figure (Tav. I).

FIGURA 1. — Vari tipi di cellule nell' essudato peritoneale (da preparati per striscio, fissati in formolo e colorati con carmallume) e nell' omento (fissato in formolo, incluso in paraffina, colorato con carmallume) di cavie colorate vitalmente e inoculate con bacillo tubercolare o tubercolina. Oc. 4 comp. — Ob. imm. apocr. 2 mm. Koristka.

a) *b*) *c*) tipi vari di macrofagi nel peritoneo di cavia iniettata 24 ore prima con 1 cc. di tubercolina;

d) *e*) *probabili* microistiociti con scarsa colorazione vitale: la scarsezza della granulazione potrebbe far sospettare l'origine ematogena di questi elementi, che allora avrebbero secondariamente fagocitato particelle di trypanblau;

f) cellule di rivestimento del peritoneo nell' essudato di cavia, trattata con tubercolina, poi inoculata con tubercolosi ed uccisa dopo 5 ore;

g) *h*) *i*) elementi istogeni dell'omento (cavia inoculata con tubercolina 24 ore avanti): in *g*) la cellula ancora fissa, in riposo, il clasmatocita; in *h*) la cellula mobilizzata; in *i*) un microistiocita tipico;

l) *m*) linfociti, sicuramente ematogeni;

n) un polinucleato, che ha fagocitato secondariamente dei granuli di colore vitale.

FIGURA 2. — Omento di cavia iniettata con tubercolosi tipo umano sottocute e dopo 20 giorni reiniettata con tubercolosi id. nel peritoneo (fissato formolo, incluso paraffina, colorato sec. Ziehl.) Oc. 4 comp. — Ob. imm. apocr. 2 mm. Koristka. I bacilli sono tutti fuori delle cellule colorate vitalmente, e giacciono entro o fra cellule in gran parte certamente ed in piccola parte forse di origine ematogena.

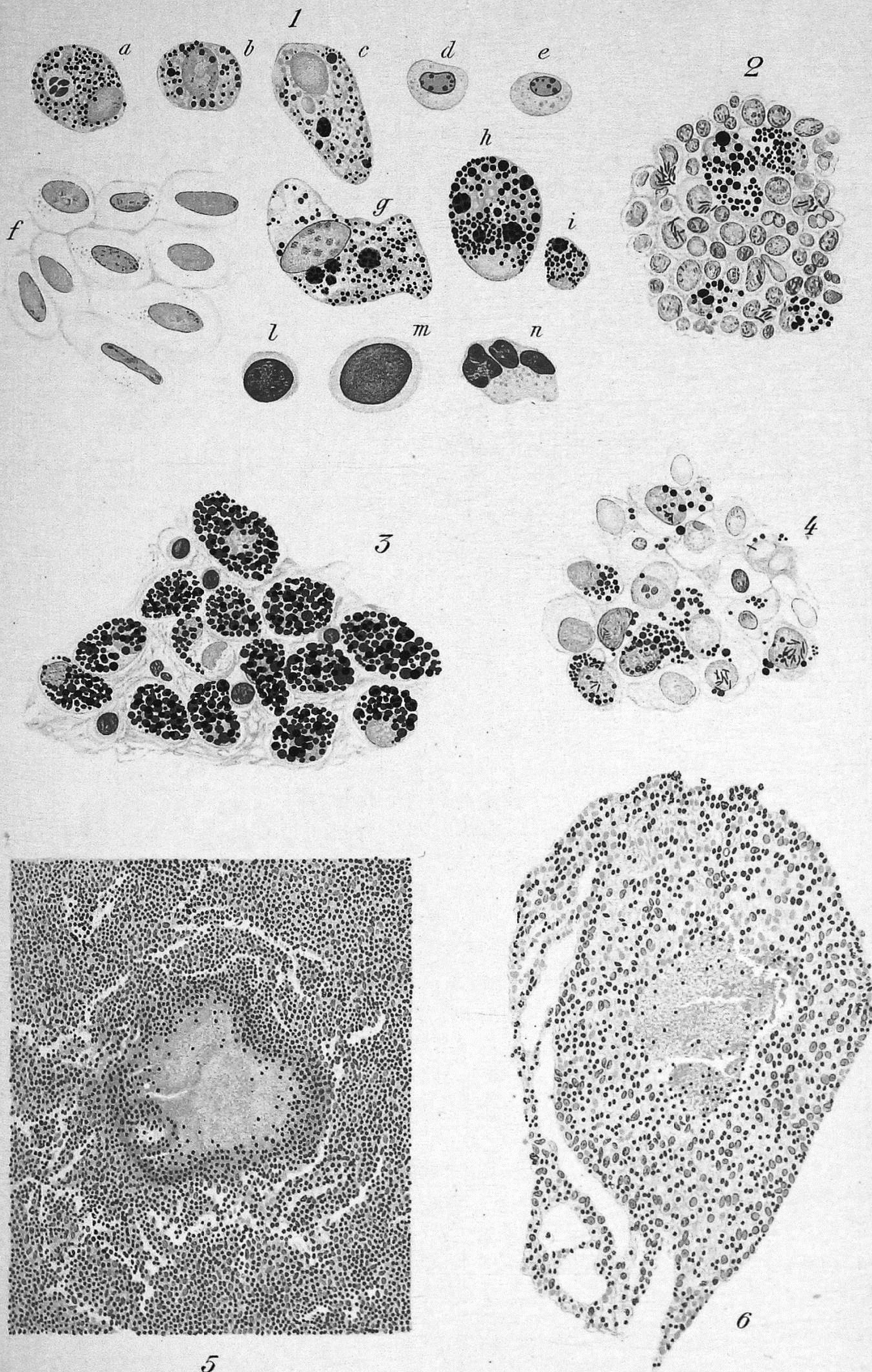
FIGURA 3. — Omento di coniglio, ucciso 24 ore dopo l' iniezione di bacilli tipo umano nel peritoneo (fissato formolo, incluso in paraffina, colorito con carmallume). Oc. 4 comp. — Ob. imm. apocr. 2 mm. Koristka. Si vede la reazione da parte degli elementi istogeni (colorati vitalmente), che si accumolano e formeranno il primo rudimento del tubercolo.

FIGURA 4. — Omento di cavia iniettata con tubercolosi tipo umano nel peritoneo 3 giorni prima (fissato in formolo, incluso in paraffina, colorato collo Ziehl). Oc.4 comp. — Ob. imm. apocr. 2 mm. Koristka. Il più dei bacilli sono entro cellule colorate vitalmente, sia pure a scarsa granulazione (indice di fatti degenerativi nella cellula). Nel tessuto non o pochi elementi sicuramente ematogeni (confr. con fig. 2).

FIGURA 5. — Omento di coniglio iniettato circa 33 giorni prima con tubercolosi tipo bovino (fissato in formolo, incluso in paraffina, colorato con carmallume). Oc. 3, — Ob. 4 Koristka. Tubercolo prevalentemente linfoide. Sostanza caseosa bleu ; scarsi elementi colorati vitalmente alla periferia.

FIGURA 6. — Omento di coniglio iniettato circa 23 giorni prima con tubercolosi tipo umano. Colorazione e ingr. come sopra. Tubercolo misto, scarsi elementi colorati vitalmente alla periferia.





Dr. P. Rondoni. _La reazione peritoneale ai bacilli tubercolari ed alla tubercolina_

FIRENZE
SOCIETÀ TIPOGRAFICA FIORENTINA
33 - VIA S. GALLO - 33
1916